

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

100-  
L35 ANSWER 3 OF 17 WPIDS COPYRIGHT 2001 DERWENT INFORMATION LTD  
AN 2000-272226 [24] WPIDS  
CR 2000-246648 [20]  
DNC C2000-083210

TI Protecting cells, tissues and organs against age-induced degradation, using trimethylammonium compound or S-adenosyl-methionine to combat reduced adenosine triphosphate production.

DC B02 B05 D13 D21  
IN BOROS, M; GHYCZY, M  
PA (GHYC-I) GHYCZY M  
CYC 1  
PI DE 19839441 A1 20000302 (200024)\* 5p A61K031-52  
ADT DE 19839441 A1 DE 1998-19839441 19980829  
PRAI DE 1998-19839441 19980829  
IC ICM A61K031-52  
ICS A23K001-16; A23L001-30; A61K007-48; A61K031-685

AB DE 19839441 A UPAB: 20000522  
NOVELTY - Use of compounds (I) containing a trimethylammonio-methyl or 2-(trimethylammonio)-ethyl group or S-adenosyl-methionine (II) is claimed for the preparation of medicaments, or in dietetic or other foods, feedstuffs and/or skin care compositions, for the prophylaxis and/or treatment of age-associated reduced adenosine triphosphate (ATP) production.

ACTIVITY - Cytoprotective.

MECHANISM OF ACTION - Oxidant. In aerobic cells, (I) act as oxidizing agents which counteract the reductive effect of excessive NADH, NADPH and FADH<sub>2</sub> (i.e. the reduced forms of nicotinamide-adenine dinucleotide, nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate and flavine-adenine dinucleotide) in reducing ATP biosynthesis.

USE - (I) or (II) delays the effects of aging on cells, tissues and organs (e.g. the heart, brain and skeletal muscle), by normalizing production of ATP (a major cellular energy source) in mitochondria.

In tests in 4-year old rats, oral administration of 200 mg/kg of betaine once daily for a week increased the cardiolipin content of the phospholipids in the mitochondria from 12.1 wt. % to 16.3 wt. % (ca. 25 % increase). The corresponding values for the same tests in 1-year old rats were 16.4 wt. % and 16.3 wt. % (no significant difference).

ADVANTAGE - (I) are natural products which convert the excess reducing agents into harmless metabolites. They have a similar action to carnitine, but (unlike carnitine) do not act as fatty acid carriers.

Dwg.0/0

TECH DE 19839441 A1 UPTX: 20000522

TECHNOLOGY FOCUS - PHARMACEUTICALS - Preferred Components: (I) is selected from betaine, acetylcholine, choline, glycerophosphocholine, phosphatidyl choline, lysophosphatidyl choline and sphingomyelins and their derivatives and mixtures, possibly with different fatty acid components.

FS CPI  
MC CPI: B04-B03A; B05-B01P; B10-A22; B14-E11; B14-N17; D03-H; D03-H01T2; D08-B09A



⑯ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**  
  
**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑯ **Offenlegungsschrift**  
**DE 198 39 441 A 1**

⑯ Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**A 61 K 31/52**  
 A 61 K 31/685  
 A 61 K 7/48  
 A 23 L 1/30  
 A 23 K 1/16

⑯ Aktenzeichen: 198 39 441.1  
 ⑯ Anmeldetag: 29. 8. 1998  
 ⑯ Offenlegungstag: 2. 3. 2000

**DE 198 39 441 A 1**

<p>⑯ Anmelder:    Ghyczy, Miklos, Dr., 50933 Köln, DE</p> <p>⑯ Vertreter:    Patentanwälte Dr. Ulrich Beines, Philipp Lau-Loskill,    41189 Mönchengladbach</p>	<p>⑯ Erfinder:    Ghyczy, Miklos, Dr., 50933 Köln, DE; Boros, Mihaly,    Dr., Szeged, HU</p> <p>⑯ Entgegenhaltungen:    FR 27 13 483 A1    EP 03 99 909 A1    Hepatology 1995, 21 (1), 207-214;    Scand. J., Gastroenterol. 1990, 25(10), 1034-1040;    Eur. Surg. Res. 1998, 30 (1), 34-42;</p>
---	---

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ Verwendung von Substanzen zur Behandlung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion

⑯ Der Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung von Substanzen, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N_+-(CH_3)_3$  besitzen, wobei  $n$  gleich 1 oder 2 ist, oder S-Adenosylmethionin zur Herstellung von Arzneimitteln zur Vorbeugung und/oder Behandlung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist die Verwendung dieser Substanzen in Nahrungsmitteln, diätetischen Lebensmitteln, Futtermitteln und Hautpflegemitteln zum gleichen Zweck.

**DE 198 39 441 A 1**

## Beschreibung

Der Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung von Substanzen zur Behandlung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von diesen Substanzen in Nahrungsmitteln, diätetischen Lebensmitteln, Futtermitteln und Hautpflegemitteln zum gleichen Zweck.

Die Energie, die aerobe Lebewesen für ihre Existenz benötigen, wird durch die chemische Energie geliefert, die die Pflanzen mit Hilfe der Sonne erzeugen und in Form von organischen Substanzen speichern. Diese in organischen Molekülen gespeicherte chemische Energie wird von aeroben Lebewesen wie den Tieren oder dem Menschen mit der Nahrung aufgenommen und in eine für sie brauchbare Form in einem zweistufigen Prozeß umgewandelt.

Nahezu alle Energie, die aus der Verbrennung dieser chemischen Energie, d. h. aus Kohlenhydraten, Fetten und anderen Nährstoffen in frühen Stadien der Oxidation zur Verfügung steht, wird zunächst einmal in Gestalt energiereicher Elektronen zusammen mit Protonen gespeichert. Diese werden in den Mitochondrien durch spezielle Biomoleküle von den Substraten übernommen. Diese Biomoleküle haben reduzierende Eigenschaften, d. h. sie können Wasserstoff unter Freisetzung von Energie an ein Substrat abgeben.

Diese speziellen Biomoleküle oder reduktiven Äquivalente sind Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD<sup>+</sup>), Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADP<sup>+</sup>) und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD). Sie übernehmen in dieser ersten Stufe der Energieumwandlung jeweils zwei Elektronen zusammen mit einem Wasserstoff und werden in die reduzierte Form NADH, NADPH bzw. FADH<sub>2</sub> umgewandelt. Diese Zwischenstufe der Energie ist jedoch für aerobe Lebewesen nur begrenzt nutzbar.

In der zweiten Stufe werden diese Wasserstoff tragenden reduzierenden Biomoleküle in einem komplexen Prozeß, der Atmungskette, mit molekularem Sauerstoff in den Mitochondrien zusammengeführt. In dieser Reaktion wird Sauerstoff zu Wasser reduziert. Die Atmungskette ist der energieliefernde Apparat der Mitochondrien und besteht aus verschiedenen Proteinen und Molekülen, die an der wohlgeordneten Folge von Elektronenübergängen innerhalb der inneren Mitochondrienmembran beteiligt sind. Dabei wird in den Mitochondrien durch Oxidation der verschiedenen Nährstoffe Adenosintriphosphat (ATP) erzeugt, der wichtigste Energielieferant des intermediären Stoffwechsels. Dabei wird die Energie in Form von energiereichen Phosphatbindungen im ATP-Molekül gespeichert.

So werden also im Verlauf des Abbaus eines Kohlenhydratmoleküls zu CO<sub>2</sub> in Mitochondrien in der ersten Stufe Elektronen freigesetzt und diese Energie in Form von Wasserstoff (Protonen und Elektronen) von speziellen Biomolekülen gebunden und in der zweiten Stufe über eine Reaktionskette auf O<sub>2</sub> übertragen, das letztendlich zu H<sub>2</sub>O reduziert wird.

Dieser Prozeß ist allen aeroben Zellen gemeinsam. Störungen in diesem grundlegenden Prozeß manifestieren sich als unterschiedliche Phänomene sowohl auf zellulärer Ebene als auch in verschiedenen Organen und damit auch möglicherweise im gesamten Organismus. In der Zelle können unterschiedliche Organellen geschädigt werden und die betroffenen Zellen können die Schädigung an die Organe und an den Organismus weitergeben. Aus diesen Zusammenhängen folgt, daß Störungen in der Energieumwandlung der Zelle zu unterschiedlichsten Krankheitsbildern sowie zur Alterung des menschlichen oder tierischen Organismus führen können.

Bisher wurde angenommen, daß Sauerstoffradikale, die als Nebenprodukte bei der Störung der zweiten Stufe der Energieumwandlung entstehen können für derartige oxidative Veränderungen an der inneren Membran der Mitochondrien verantwortlich sind.

So war man bisher der Ansicht (Richard Weindruch, 1996, Spektrum der Wissenschaft, "Länger leben bei karger Kost?" März 1996, Seiten 74-80), daß freie Radikale entstehen könnten, falls Elektronen aus der Elektronentransportkette entweichen und von O<sub>2</sub>-Molekülen eingefangen würden. Die Mitochondrien seien diesen freien Radikalen besonders ausgesetzt, die deshalb so schädlich seien, weil sie lebensnotwendige Moleküle zerstörten. Außer Proteinen und Lipiden schädigten sie auch die Erbsubstanz. Für die Mitochondrien bestehe das höchste Risiko einer Schädigung, weil sie als Entstehungsort der freien Radikale als erste mit diesen in Berührung kämen und weil ihre eigene DNA im Gegensatz zur Erbsubstanz des Zellkerns ein spezielles Schutzschild aus Proteinen gegen solche Angriffe fehle. So werde mitochondriale DNA wesentlich mehr oxidativ geschädigt als Kern-DNA aus demselben Gewebe.

Die freien Radikale griffen zugleich andernorts in den Zellen an und dies wirke sich ebenfalls auf Gewebe und Organe aus. Die Folgen seien irreparable Schäden an Proteinen und DNA der Mitochondrien, die sich mit der Zeit anhäuften. Dabei werde die ATP-Synthese in Hirn, Herz und in der Skelettmuskulatur und anderen Organen im Alter immer schwächer. Je stärker schließlich lebenswichtige Funktionen geschwächt seien, desto weniger gut vermöge der Organismus mit Belastungen umzugehen. Es käme schließlich zu degenerativen Erkrankungen.

In den letzten Jahren sind deshalb große Anstrengungen unternommen worden, Substanzen zu finden, die die Störungen in der Energieumwandlung in der Zelle verhindern oder die Folgen der bereits eingetretenen Störung kurativ minimieren können. Hierbei wurde die Vorstellung verfolgt, daß die Störung nur in der zweiten Stufe der Energieumwandlung eintreten könne und die Auslöser dieser Störungen Sauerstoffradikale seien. Weiterhin wurde angenommen, daß Sauerstoffradikale mit Biomolekülen reagierten und somit die Biomoleküle ihre Funktion in der Zelle nicht mehr erfüllen könnten. Da Sauerstoff überall in der aeroben Zelle und im Organismus anwesend ist und die Energieumwandlung in jeder Zelle stattfindet, wurde angenommen, daß die Ursache des vorzeitigen Alterns in der ubiquitären Entstehung und Toxizität der Sauerstoffradikale lägen.

Die Problematik der Reaktion von Sauerstoffradikalen mit chemischen Substanzen wurde zuerst in der technischen Industrie bekannt. So wurden eine große Anzahl von Antioxidantien für technische Anwendungen wie Farben, Kunststoffe oder Gummi entwickelt. Da die Reaktion mit Sauerstoffradikalen und chemischen Substanzen außerordentlich schnell abläuft und Sauerstoff überall anwesend ist, ist für die Erreichung eines guten Wirkungsgrades eine hohe Konzentration an Antioxidantien notwendig. Die erfolgreiche Anwendung der Antioxidantien in der nicht lebenden Materie führte zu der Hoffnung, dieses Prinzip auch in dem menschlichen Organismus anwenden zu können. Dabei wurde vorausgesetzt, daß der Mechanismus der Reaktion zwischen Sauerstoffradikalen und organischen Molekülen die gleichen sind, unabhängig davon, ob die Umgebung die lebende Zelle oder unbelebte Materie ist. Mit Methoden, die aus der technischen Industrie bekannt wurden, konnten Substanzen identifiziert werden, die in aeroben Lebewesen vorkommen und/oder Teil

der Nahrung sind und antioxidative Eigenschaften haben.

Um die angenommenen von Sauerstoffradikalen bedingten Störungen im Energiestoffwechsel nachzuweisen, wurden mehrere epidemiologische Studien mit solchen natürlichen Antioxidantien durchgeführt. Ziel war es, die Lebenserwartung zu erhöhen, den Ausbruch von Krankheiten zu verzögern und die Dauer von Erkrankungen zu verkürzen. Diese Studien haben jedoch gezeigt, daß die natürlichen Antioxidantien diese Erwartungen nicht erfüllen können. Eine der großen Studien mußte sogar abgebrochen werden, da das verwendete Antioxidanz  $\beta$ -Carotin lebensverkürzend wirkte. Weiterhin hat sich gezeigt, daß Kombinationen von anderen natürlichen Antioxidantien unwirksam waren.

Ausgangspunkt für die vorliegende Erfindung ist der Energiestoffwechsel in Mitochondrien. Cardiolipin ist ein lebensnotwendiges Biomolekül biologischer Membranen, die gekoppelte Phosphorylierung und Elektronentransport durchführen. Cardiolipin befindet sich insbesondere in der inneren Membran der Mitochondrien wo es asymmetrisch verteilt ist und trägt dazu bei, diese Membran besonders ionenundurchlässig zu machen. Dies ist für den Energiestoffwechsel und die ATP-Synthese in den Mitochondrien essentiell. Für die Synthese von Cardiolipin sowie für den Energienutzung werden bestimmte Fettsäuren benötigt, die in die Mitochondrien transportiert werden müssen. Für diesen Transport ist Carnitin notwendig. Paradies et al. berichtete 1995 in der Fachzeitschrift "Mechanisms of Ageing and Development" (Nr. 84, Seiten 103 bis 112), daß Mitochondrien von Zellen aus Herzen alter Ratten weniger Cardiolipin enthielten und eine geringere ATP-Produktion zeigten als Mitochondrien junger Ratten. Durch Zugabe von Carnitin konnte eine Normalisierung der Werte auf das Maß junger Tiere erreicht werden.

Die technische Aufgabe war es daher, vorbeugende und/oder kurative Mittel gegen altersbedingt verminderte ATP-Produktion bereitzustellen, die durch Störungen des Energienutzung entsteht und mit Schädigungen von Mitochondrien, Zellen und Organen verbunden ist.

Die technische Aufgabe wurde gelöst durch die Verwendung von Substanzen, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$  besitzen, wobei n gleich 1 oder 2 ist, oder S-Adenosylmethionin zur Herstellung von Arzneimitteln zur Vorbeugung und/oder Behandlung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion.

Weiterhin wird die technische Aufgabe gelöst durch die Verwendung von Substanzen, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$  besitzen, wobei n gleich 1 oder 2 ist, oder S-Adenosylmethionin, in Nahrungsmitteln und/oder diätetischen Lebensmitteln und/oder Futtermitteln und/oder Hauppflegemitteln zur Vorbeugung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion. So lassen sich mit diesen Substanzen auch beispielsweise Hauppflegemittel herstellen, die geeignet sind der Alterung der Haut durch innerliche oder äußerliche Anwendung vorzubeugen und/oder zu behandeln.

Es wurde nämlich überraschenderweise gefunden, daß die Ursache für die altersbedingt verminderte ATP-Produktion nicht auf Sauerstoffradikale, die im zweiten Schritt der Energieumwandlung in den Mitochondrien entstehen, zurückzuführen ist. Vielmehr führt der Überschuß an den reduktiven Äquivalenten NADH, NADPH bzw. FADH<sub>2</sub> zu Schädigungen und letztlich zur Verminderung der ATP-Produktion. Weiterhin war überraschend, daß die reduktive Kraft dieser reduktiven Äquivalente durch S-Adenosylmethionin oder durch solche Substanzen abgefangen werden kann und damit Schädigungen vermieden werden können, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$  besitzen, wobei n gleich 1 oder 2 ist.

In einer weiteren besonders bevorzugten Verwendung sind die Substanzen mit der funktionellen Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$ , ausgewählt aus der Gruppe Btaein, Acetylcholin, Cholin, Glycerophosphocholin, Phosphatidylcholine, Lysophosphatidylcholine und Sphingomyeline, deren Derivate oder Kombinationen derselben, wobei der Fettsäureanteil der betreffenden Substanzen unterschiedlich sein kann.

Eine Schädigung in der Energieumwandlung in den Mitochondrien ergibt sich, wenn die Konzentration von NADH, NADPH und FADH<sub>2</sub> so hoch wird, daß die überschüssige reduzierende Kraft nicht vollständig von der zweiten Stufe, der Atmungskette, übernommen werden kann. Ist dies der Fall, so werden dafür nicht vorgesehene Biomoleküle der Zelle reduziert. Durch die daraus resultierende Störung des Stoffwechsels können Organellen, Zellen, Gewebe und schließlich Organe geschädigt werden und damit die Alterung verursachen. Die Ursachen für diese Fehlfunktion in der Atmungskette können Gifte, Arzneimittel und eine an biologischen Oxidationsmitteln (quaternären Stickstoff- bzw. tertiären Schwefelverbindungen) arme Ernährung sein.

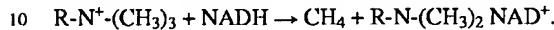
Zu den gefährdeten Biomolekülen, die von den reduktiven Äquivalenten angegriffen werden können, gehören alle im Organismus vorkommenden Substanzen, die beispielsweise methylsubstituierte quaternäre Stickstoffgruppen oder tertiäre Schwefelgruppen aufweisen. Durch Reaktion der überschüssigen NADH-, NADPH-, bzw. FADH<sub>2</sub>-Moleküle mit diesen Methylgruppen wird der Vorrat an freien Methylgruppen in der Zelle verringert. Die Methylgruppen stehen dann nicht mehr für lebensnotwendige Reaktionen zur Verfügung.

So sind unerwünschte und für den Organismus schädliche Angriffspunkte für die überschüssigen reduzierenden Moleküle NADH, NADPH bzw. FADH<sub>2</sub> solche Substanzen, die beispielsweise für die DNA-Methylierung, die Signalleitung in den Nervenzellen (Acetylcholin) und die Phospholipid-Synthese für biologische Membranen (Phosphatidylcholin) notwendig sind. Dies sind wichtige Beispiele lebensnotwendiger Prozesse, bei denen Biomoleküle mit mobilen Methylgruppen essentiell sind. Werden diese durch Angriff von Molekülen wie NADH, NADPH bzw. FADH<sub>2</sub> reduziert, wobei labile CH<sub>3</sub>-Gruppen abgespalten werden und Methan entsteht, kommt es zu einer Störung der betreffenden Prozesse.

Besonders gefährdet ist dabei die ATP-Produktion in den Mitochondrien. Wie eingangs erwähnt, ist der Cardiolipin-gehalt in der inneren Mitochondrienmembran wichtig für die Undurchlässigkeit der inneren Mitochondrienmembran für Ionen und damit für die ATP-Produktion. Wird Carnitin jedoch von überschüssigem NADH, NADPH bzw. FADH<sub>2</sub> reduziert und damit seine für die Mitochondrien wichtige Funktion zerstört, verringert sich auch der Cardiolipin-gehalt der inneren Mitochondrienmembran, da Cardiolipin für den Transport der Fettsäuren notwendig ist, die für die Synthese von Cardiolipin benötigt werden. Die Membran wird dadurch für Ionen durchlässiger und daher nimmt die Effizienz der ATP-Synthese ab. Aus dieser Schädigung der Mitochondrien entstehen Störungen in der Zelle, die zur Alterung der Gewebe und Organe führen. Die Zugabe von Carnitin jedoch erhöht die ATP-Produktion. Es konnte weiterhin gezeigt werden, daß andere Substanzen mit der funktionellen Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$ , überraschenderweise den gleichen Effekt wie Cardiolipin hervorrufen. Dies war deshalb nicht vorherschbar, weil diese anderen Substanzen im Gegensatz zu Car-

nitin nicht als Transportmittel für Fettsäuren dienen.

Natürliche Substanzen, die beispielsweise einen quarternären Stickstoff mit der allgemeinen Formel  $-(\text{CH}_2)_n\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  enthalten, wirken in aeroben Zellen als Oxidationsmittel. Sie können in ihrer erfundungsgemäßen Verwendung in Arzneimitteln und Nahrungsmitteln zur Vorbeugung und Behandlung der altersbedingt vermindernten ATP-Produktion in den Mitochondrien dienen. Dabei werden die eine überschüssige reduzierende Energie tragenden Substanzen in der Weise reduziert, daß sie ihren Wasserstoff abgeben. Hierbei wird das NADH zu  $\text{NAD}^+$ , das NADPH zu  $\text{NADP}^+$  bzw. das  $\text{FADH}_2$  zu FAD oxidiert und die biologischen Oxidationsmittel übernehmen die überschüssige reduzierende Kraft durch die folgende Reaktionsgleichung I:



Hierbei wird der Wasserstoff unter Bildung eines Methanmoleküls von der mobilen Methylgruppe übernommen. Methan verläßt den Organismus als untoxischer nichtreaktiver Metabolit mit der Atemluft. Die anderen Metaboliten sind Alkyl-Dimethyl-Aminogruppen tragende Substanzen, die in den aeroben Lebewesen natürlicherweise vorkommen und nicht toxisch sind. Zu den biologischen Oxidationsmitteln gehören natürliche Substanzen, beispielsweise Betain, Cholin, Acetylcholin, Glycerophosphocholin sowie Phosphatidylcholine, Lysophosphatidylcholine und Sphingomyeline, die unterschiedliche Fettsäuren in ihren Molekülen enthalten können. Weitere biologische Oxidationsmittel sind natürliche Substanzen, die eine methylsubstituierte tertiäre Schwefelgruppe, beispielsweise S-Adenosylmethionin, besitzen.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

20 Beispiel 1

Die Wirksamkeit der erfundungsgemäßen Verwendung biologischer Oxidantien in Nahrungsmitteln und Arzneimitteln wurde durch den folgenden pharmakologischen Versuch bestätigt:

25 Der Versuch sollte zeigen, daß der Überschuß an reduzierenden NADH, NADPH bzw.  $\text{FADH}_2$  mobile Methylgruppen aufbraucht. Durch Ischämie-Reperfusions wurde dabei in den Versuchstieren Reduktionskraft in seiner reinsten Form erzeugt. Die in die Versuchstiere eingebrachten überschüssigen reduktiven Äquivalente würden vom Vorrat an labilen Methylgruppen in den Mitochondrien aufgenommen. Durch die Reaktion würden die reduktiven Äquivalente oxidiert und die labilen Methylgruppen körpereigener quarternärer Stickstoff- bzw. tertiärer Schwefelverbindungen abgespalten und zu Methan reduziert. Das Methan würde dann als Anzeiger für diese Reaktion in der Atemluft gemessen werden können.

30 Der Versuch wurde durchgeführt, indem einer Versuchsgruppe bestehend aus 12 Hunden mittels einer Ischämie-Reperfusions reduktive Äquivalente über den Dünndarm zugeführt wurden. Als Kontrolle diente eine Gruppe aus 8 Tieren, die mit einer physiologischen Kochsalzlösung ohne Zusatz von reduktiven Äquivalenten behandelt wurden. Verglichen zur Kontrollgruppe wurde bei den Tieren, die mit reduktiven Äquivalenten versorgt wurden, eine wesentliche Erhöhung 35 der Methankonzentration in der Atemluft beobachtet. Damit wurde erstmals gezeigt, daß labile Methylgruppen die Reduktionskraft von NADH, NADPH, bzw.  $\text{FADH}_2$  im lebenden Organismus aufnehmen.

35 Die Schlußfolgerung aus diesem Versuch ist, daß mit Hilfe natürlich vorkommender biologischer Substanzen mit der funktionellen Gruppe  $-(\text{CH}_2)_n\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  in aeroben Lebewesen überschüssige und deshalb toxische, reduktive Äquivalente in nichttoxische Metabolite umgewandelt werden können. Damit können diese Substanzen durch Zugabe in Nahrungsmitteln oder als Arzneimittel als Vorbeugung und/oder Behandlung von altersbedingter Verminderung der ATP-Produktion Anwendung finden, die durch einen Überschuß von reduktiven Biomolekülen hervorgerufen wird. Somit ist es möglich die Alterung der Zellen, Gewebe und Organe wesentlich zu verzögern.

Beispiel 2

45 Dieser Versuch soll zeigen, daß die Zugabe von Betain eine Erhöhung des Cardiolipin gehaltes der Mitochondrien bewirkt. Es wurde der Cardiolipin gehalt von Mitochondrien aus Herzmuskelzellen von unterschiedlich behandelten Versuchsratten untersucht. Die Versuchstiere waren in vier Gruppen zu 10 eingeteilt. Zwei Gruppen bestanden aus einjährigen Ratten und die zwei anderen aus 4-jährigen Ratten. Jeweils eine Gruppe einer Altersklasse wurde eine Woche lang 50 1 mal täglich mit 200 mg Betain/kg Körpergewicht (KGW) gefüttert.

Der Gehalt an Cardiolipin und Fettsäuren wurde mittels HPLC (high-pressure liquid chromatography) bestimmt. Die Lipide wurden aus mitochondrialen Herzzellen mit der Chloroform-Methanol-Methode nach Bligh und Dyer (Can. J. Biochem. Physiol. [1959] 37, 911-917) extrahiert. Cardiolipin wurde mit der HPLC-Methode von Ruggiero et al. (Lipids [1984] 19, 171-178) abgetrennt.

55 Die Tabelle 1 zeigt, daß der Cardiolipin gehalt (gemessen in mol% / Gesamtgehalt an Phospholipiden) alter Ratten in den Mitochondrien um 25% unter dem Wert junger Ratten liegt. Die Zugabe von Betain vermag jedoch diesen Wert auf jene von jungen Ratten anzuheben. Betain, das im Gegensatz zu Carnitin nicht an dem Transport von Fettsäuren in die Mitochondrien beteiligt ist, übt daher überraschenderweise ebenfalls eine positive Wirkung auf den Cardiolipin gehalt aus.

60

65

Tabelle 1

Cardiolipingehalt verschieden alter Ratten mit und ohne Betain als Futterzusatz

Gruppe	1 Jahr	1 Jahr + Betain	4 Jahre	4 Jahre + Betain
Cardiolipingehalt [mol % / Gesamt- phospholipide]	16,4	16,6	12,1	16,3

5

10

15

## Patentansprüche

1. Verwendung von Substanzen, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+-(CH_3)_3$  besitzen, wobei n gleich 1 oder 2 ist, oder S-Adenosylmethionin zur Herstellung von Arzneimitteln zur Vorbeugung und/oder Behandlung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion.
2. Verwendung von Substanzen, die die funktionelle Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+-(CH_3)_3$  besitzen, wobei n gleich 1 oder 2 ist, oder S-Adenosylmethionin, in Nahrungsmitteln und/oder diätetischen Lebensmitteln und/oder Futtermitteln und/oder Hautpflegemitteln zur Vorbeugung von altersbedingt verminderter ATP-Produktion.
3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanz mit der funktionellen Gruppe  $-(CH_2)_n-N^+-(CH_3)_3$  ausgewählt ist aus der Gruppe Betain, Acetylcholin, Cholin, Glycerophosphocholin, Phosphatidylcholine, Lysophosphatidylcholine und Sphingomyeline, deren Derivate oder Kombinationen derselben, wobei der Fettsäureanteil der betreffenden Substanzen unterschiedlich sein kann.
4. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanzen oral, topisch oder parenteral angewendet werden.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**- Leerseite -**